

acid phosphatase synthesis in *S. cerevisiae*. — Molec. Gen. Genet., 1975, vol. 141, N 1 p. 81—83.

40. Toh-e A., Kakimoto S., Oshima Y. Genes coding for the structure of the acid phosphatase in *Saccharomyces cerevisiae*. — Molec. Gen. Genet., 1975, vol. 143, N 1, p. 65—70.

41. Toh-e A., Kobayashi S., Oshima Y. Disturbance of the machinery for the gene expression by acidic pH in the repressible acid phosphatase system of *Saccharomyces cerevisiae*. — Molec. Gen. Genet., 1978, vol. 162, p. 139—149.

42. Ueda Y., Oshima Y. A constitutive mutation, *phoT*, of three repressible acid phosphatase synthesis with inability to transport inorganic phosphate in *Saccharomyces cerevisiae*. — Molec. Gen. Genet., 1975, vol. 136, N 3, p. 255—259.

43. Ueda Y., Toh-e A., Oshima Y. Isolation and characterization of recessive, constitutive mutations for repressible acid phosphatase synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. — J. Bacteriol., 1975, vol. 122, N 3, p. 255—259.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ тРНК-РИБОСОМЫ В ИНФОРМАЦИОННОЙ СУПРЕССИИ У ДРОЖЖЕЙ-САХАРОМИЦЕТОВ

В. Л. ТИХОМИРОВА, Т. С. КАРПОВА, М. Д. ТЕР-АВАНЕСЯН,
С. Г. ИНГЕ-ВЕЧТОМОВ

Продуктивным подходом к изучению механизмов поддержания точности трансляции является изучение информационных нонсенс-супрессоров, т. е. супрессоров, возникающих за счет изменений компонентов аппарата трансляции. В настоящее время изучено два класса таких супрессоров.

Нонсенс-супрессоры первого типа появляются в результате изменения в антикодоне тРНК, приводящего к его комплементарности нонсенс-кодону [22, 41, 42]. Среди эукариотических организмов супрессоры данного типа наиболее полно изучены у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*. У них в отличие от прокариот супрессорные тРНК обладают строгой кодоновой специфичностью [32, 40].

Рибосомные мутации, влияющие на точность трансляции, обнаружены у про- и эукариот. У *E. coli* выделены так называемые гам-мутанты (ribosomal ambiguity), у которых изменения структуры белков S4 (ген *gpd*) и S5 (ген *gpe*) малой субъединицы рибосом приводят к снижению точности трансляции. Это регистрируют *in vivo* по наличию супрессии нонсенов, а также *in vitro* в поли-U-зависимой бесклеточной белоксинтезирующей системе [23, 24].

Изменения белков S12 (ген *gpl*) и S17 (ген *gpr*) малой субъединицы и белка L6 (ген *gpf*) большой субъединицы повышают точность трансляции [33, 39]. Следовательно, контроль точности трансляции является межсубъединичной функцией рибосом [28].

У эукариот обнаружены аналогичные мутации. Так, у дрожжей *S. cerevisiae* мутационные изменения белка S11 (ген *sup46*) малой субъединицы приводят к снижению точности трансляции *in vivo* и *in vitro* [30, 31, 36]. У *Podospora anserina* две антисупрессорные мутации в генах *sup1* и *sup2* приводят к уменьшению точности трансляции в поли-U-зависимой бесклеточной белоксинтезирующей системе [37]. У эукариот контроль точности трансляции осуществляется участием большой субъединицы рибосом в контроле точности трансляции. У дрожжей *S. cerevisiae* подробно исследованы супрессоры *sup1* и *sup2* [5, 6], кодирующие белки большой субъединицы [44, 45]. В бесклеточной белоксинтезирующей системе мутанты снижают уровень неоднозначности трансляции [43].

Отметим особенность супрессора эукариот, действующего через изменения тРНК (тРНК-супрессоры) и рибосом (рибосомные супрессо-

ры). тРНК-супрессоры проявляют строгую кодоновую специфичность и являются чаще всего доминантными. Рибосомные супрессоры, как правило, рецессивны. Кроме того, для них характерны многочисленные плейотропные проявления [12, 46, 47], широкая кодоновая специфичность, они супрессируют нонсенс-мутации всех трех типов.

Таким образом, благодаря маркированию генов тРНК и рибосомных белков, можно изучать взаимодействие тРНК-рибосомы, анализируя взаимодействие тРНК- и рибосомных супрессоров в трансляции нонсенс-кодонов. Этому исследованию и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы Петергофских генетических линий дрожжей *S. cerevisiae*: 32A-П3663 MATa *adel-6 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 leu2-2*; 31A-П3663 MAT@ *ade2-163 his7-1 lys2-A12*; 20A-П3983 MATa *adel-14 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 leu2-1*; 16Г-П3663 MAT@ *ade2-163 adel-6 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 metA1*; 11Б-П3984 MAT@ *ade2-163 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 metA1*; 13В-П3663 MATa *ade2-163 adel-6 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 metA1*; 44Б-П3663 MATa *ade2-163 his7-1 lys2-A12 thr4-B15 metA1*; 20В-, 24Б-, 42Б-, 62Б-—П3585: MAT@ *adel-6 his7-1 his4-B26; lys2-A12 thr4-B15 leu2-1*; 5В-, 12В-, 16Б-П3585, 28Б-, 31В-П3585: MATα *adel-6 his7-1 his4-B 26 thr4-B 15 leu2-1*.

Кроме того, в работе использованы супрессорные мутанты по генам *sup1* и *sup2*, полученные ранее у штаммов 62Б-, 64Б-, 67Б- П3532: MAT @ *adel-14 his7-1 leu2-2 metA1*; 8А-П3532: MAT @ *adel-14 his7-1 metA1* и 29В-П2156: MATa *adel-14 his7-1 metA1*. Ранее в нашей лаборатории были идентифицированы охр- и амбер-мутации [8, 9]. Мутации *adel-6, his7-1, leu2-2, sup1-88* отнесены к охр-мутациям (CAA); *lys2-A12* — амбер-мутация (UAG); *thr4-B15* — предположительно опал-мутация (UGA).

Состав сред и обозначения генетических маркеров описаны ранее (3). В работе использовали стандартные методы генетики дрожжей (2,4). Опыты ставили не менее, чем в двух повторностях. Взаимодействие низкоэффективных охр-супрессоров с рибосомными супрессорами учитывали на 7-й день. Изучение кодоновой специфичности тРНК-супрессоров в присутствии рибосомных супрессоров проводили при 20 °С. Результаты учитывали на 20-й день.

СУПРЕССИЯ ОХР-МУТАЦИЙ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ тРНК- и РИБОСОМНЫХ СУПРЕССОРОВ

Ранее нами было показано, что доминантные (тРНК-супрессоры) и рецессивные (рибосомные) супрессоры взаимодействуют в дигетерозиготе. Результатом такого взаимодействия являлось повышение эффективности доминантных супрессоров. Об этом судили по активности кислой фосфатазы 1 (кф1), так как исследуемые диплоиды были гомоаллельны по охр-аллели *rho1* — структурного гена для кф1 [11].

Здесь мы исследовали аналогичные взаимодействия, о которых судили по супрессии ауксотрофных охр-мутаций: *his7-1* и *leu2-2*.

Для изучения взаимодействия тРНК-супрессоров охр-типа с рибосомными супрессорами необходимо было получить низкоэффективные доминантные охр-супрессоры.

Получение доминантных охр-супрессоров и их характеристика. У штамма 32А-П3663 под действием УФ-лучей мы получили 198 ревертантов прототрофных одновременно по адеину и лейнину вследствие супрессии охр-мутаций *adel-6* и *leu2-2*. У 196 из них наблюдали также супрессию охр-мутаций *his7-1*, и только два ревертанта оставались ауксотрофными по гистидину: R1- и R2-32А-П3663. Проверка доминантности показала, что в обоих случаях супрессорные мутации полудомин-

нантны при взаимодействии с *ade1-6* и рецессивны при взаимодействии с *leu2-2*. Кроме того, было обнаружено, что у ревертанта R1 при 10°C наблюдается супрессия мутации *his7-1*. Таким образом, мы выделили два ревертанта, несущих охр-супрессоры с пониженной эффективностью по отношению к аллели *his7-1*.

Дополнительная характеристика этих ревертантов была получена в тесте на межаллельную комплементацию, индуцированную супрессорами (МАКиС) в локусе *ade2* [7]. С этой целью ревертаны R1- и R2-32A-П3663 скрестили со штаммом 31A-П3663, несущим несупрессируемую мутацию *ade2-163*, и провели тетрадный анализ гибридов. В тетрадном анализе гибрида П5150 (R1-32A-П3663 × 31A-П3663), гомозиготного по *his7-1* и гетерозиготного по супрессору, обнаружили четкое расщепление 2⁺ : 2⁻ по гистидину при 10 и 20°C. При 30°C все сегреганты имели фенотип *His*⁻. Это свидетельствует о том, что эффективность супрессора у сегрегантов данного гибрида несколько выше, чем у исходного ревертанта R1-32A-П3663, у которого супрессия мутации *his7-1* наблюдалась только при 10°C. Аналогично в тетрадном анализе гибрида П5151 (R2-32A-П3663 × 31A-П3663) было обнаружено несколько сегрегантов, которые при 20°C имели фенотип *His*⁺, хотя у исходного ревертанта R2-32A-П3663 мутация *his7-1* ни при одной из трех проверенных температур (10, 20 и 30°C) не супрессировалась. При 30°C все сегреганты данного гибрида имели фенотип *His*⁻.

Из расщепления гибридов П5150 и П5151 отобрали 111 сегрегантов генотипа: МАТА *ade2-163* и МАТ@ *ade2-163* (56 и 55 соответственно). Среди них 29 сегрегантов гибрида П5150 и 6 сегрегантов гибрида П5151 имели фенотип *His*⁺ при 20°C. Эти 111 сегрегантов были изучены в тесте на МАКиС при скрещивании с нонсенс-мутантами по гену *ade2*.

Для сегрегантов гибрида П5150 фенотипа *His*⁺ и 22 сегрегантов гибрида П5151, включая 6 сегрегантов *His*⁺, была обнаружена супрессия двух охр-мутаций из 13 проверенных. В то же время мы не нашли ни одного случая супрессии амбер- или опал-мутаций (проверено по 11 амбер- и опал-мутантов по гену *ade2*).

Таким образом, доминантность, проявляющаяся при взаимодействии с некоторыми нонсенс-аллелями, и строгая кодоновая специфичность этих низкоэффективных супрессоров подтверждают то, что они являются тРНК-супрессорами.

Взаимодействие тРНК- и рибосомных супрессоров. Для анализа взаимодействия тРНК-супрессоров с рибосомными провели скрещивание ревертантов R1-32A-П3663 и R2-32A-П3663 с коллекционными мутантами по генам *sup1* и *sup2*, полученными у штаммов 62Б-, 64Б-, 67Б-П3532. У полученных гибридов, дигетерозиготных по тРНК- и рибосомному супрессорам и гомозиготных по *his7-1* и *leu2-2*, анализировали супрессию мутаций *his7-1* и *leu2-2*. Во всех контрольных скрещиваниях, а именно: скрещивание ревертантов R1 и R2 со штаммами 62Б-, 64Б- и 67Б-П3532, а также скрещивание мутантов по генам *sup1* и *sup2* со штаммом 32A-П3663, мы не наблюдали супрессии *his7-1* или *leu2-2* (табл. 1). Оказалось, что при взаимодействии рибосомных супрессоров с низкоэффективными тРНК-супрессорами происходит увеличение эффективности охр-супрессии, что проявляется в подавлении мутаций *his7-1* и *leu2-2*.

Анализ взаимодействия сегрегантов, полученных из расщепления гибридов П5150 и П5151, с рибосомными супрессорами позволил оценить влияние эффективности тРНК-супрессора на характер данного взаимодействия. 29 сегрегантов гибрида П5150 и 22 сегреганта гибрида П5151, обнаруживших способность к супрессии охр-мутаций по гену *ade2*, были проверены на доминантность при супрессии *his7-1*. Оказа-

Таблица 1. Взаимодействие рибосомных супрессоров *sup1* и *sup2* с высокоэффективными тРНК-супрессорами штаммов R1-32A-П3663 и R2-32A-П3663 в дигетерозиготах (20 °C):

тРНК-супрессор штамма	рибосомные супрессоры *		Фенотип гибридов дигетерозиготных по супрессорам:			
	ген	число	His ⁻	His ⁺	Leu ⁻	Leu ⁺
R1-32A-П3663	<i>sup1</i>	16	16	0	16	0
	<i>sup2</i>	18	0	18	1	17
R2-32A-П3663	<i>sup1</i>	16	16	0	16	0
	<i>sup2</i>	18	7	11	18	0

Примечание. Все контрольные гибриды, моногетерозиготные по тРНК-супрессору или рибосомному супрессору, имели фенотип His⁻ Leu⁻.

* Супрессоры получены у штаммов 62Б-, 64Б- и 67Б-П3532.

лось, что у 14 сегрегантов гибрида П5150 и 4 сегрегантов гибрида П5151 супрессорные мутации проявляются как полудоминантные. У остальных 33 сегрегантов супрессорный эффект в гетерозиготе не проявляется. Их можно разделить на две группы (табл. 2). Во-первых,

Таблица 2. Взаимодействие тРНК-супрессоров (сегреганты гибридов П5150 и П5151) с рибосомными супрессорами *sup1* и *sup2*

в дигетерозиготах (20 °C):

Гибрид	Исследованные сегреганты:		Фенотип His ⁺ при взаимодействии SUP ^{oc} .		
	число	фенотип	с <i>sup1</i>	с <i>sup2</i>	с <i>sup1</i> и <i>sup2</i>
П5150	15	His ⁺	0	9	6
П5151	16	His ⁻	0	9	7
	2	His ⁺	0	9	1

Примечание. Исследованы только те сегреганты, у которых супрессорная мутация рецессивна при супрессии *his7-1*. В скрещиваниях использовали 10 ревертантов MAT⁺ *sup1* и 13 — MAT⁺ *sup2*, полученных у штаммов 8А-, 64Б-, 67Б-П3532, а также 16 ревертантов MAT⁺ *sup1* и 9 — MAT⁺ *sup2*, полученных у штамма 29В-П2156.

сегреганты, которые как и исходные R1 и R2, взаимодействуют только с супрессорами *sup2*. Во-вторых, сегреганты, тРНК-супрессор которых взаимодействует как с *sup2*, так и с *sup1*. По-видимому, взаимодействие тРНК-супрессоров с рибосомными супрессорами *sup1* выявляется только при скрещивании с сегрегантами, у которых, благодаря действию генов-модификаторов, эффективность супрессии повышена по сравнению с таковой у исходных ревертантов R1- и R2-32A-П3663.

Таким образом, взаимодействие тРНК-супрессоров охр-типа с рибосомными супрессорами *sup1* и *sup2*, приводящее к повышению эффективности супрессии, можно регистрировать при использовании аукотрофных маркеров.

КОДОНОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ тРНК-СУПРЕССОРОВ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С РИБОСОМНЫМИ СУПРЕССОРАМИ

Взаимодействие рецессивных (рибосомных) и доминантных (тРНК) супрессоров в дигетерозиготе, выявляемое по повышению эффективности последних [11, а также предыдущий раздел], позволяет ставить

вопрос о влиянии рибосомных мутаций на специфичность взаимодействия кодонов тРНК и антикодонов супрессорных тРНК. Для проведения такого эксперимента мы получили коллекцию доминантных супрессоров (тРНК-супрессоров) у штаммов 13В-, 44Б-, 16Г-П3663 и 111Б-П3984 и рибосомных супрессоров у штаммов 20А-П3983, 24Б-, 42Б-, 20В-, 62Б-, 5В-, 12В-, 16Б-, 28Б-, 31В-П3585. Тест на аллелизм позволил идентифицировать мутации по генам *sup 1* и *sup 2*, а тест на МАКисС — подтвердить строгую кодоновую специфичность доминантных супрессоров, которая является характерной чертой тРНК-супрессоров. Скрещивая супрессорные штаммы, получаем диплоиды гомозиготные по *охр*-, *амбер*- и *опал*-мутациям (*his7-1*, *lys2-A12* и *thr4-B15* соответственно) и дигетерозиготные по тРНК-супрессору и рибосомным супрессорам. У таких диплоидов можно было исследовать кодоновую специфичность тРНК-супрессора в присутствии рибосомного супрессора, например, супрессию *амбер*-мутации (*lys2-A12*) в присутствии (в дигетерозиготе) тРНК-супрессора *охр*-типа и рибосомного супрессора. Общее число проанализированных комбинаций для разных типов тРНК-супрессоров и рибосомных супрессоров представлено в табл. 3. Из одной из 7561

Таблица 3. Кодовая специфичность доминантных тРНК-супрессоров в дигетерозиготе с рибосомными супрессорами *sup1* или *sup2* у диплоидов генотипа: $\frac{SUP}{sup1}$ $\frac{his7-1}{his7-1}$

Типы доминантных (тРНК)	Супрессоры	Рибосомные супрессоры		Число гибридов, у которых изучали супрессию (число случаев изменения кодоновой специфичности)		
		lys2-A12 thr4-B15 lys2-A12 thr4-B15		+		
		ген	число	His-7-1 (<i>охр</i>)	lys2-A12 (<i>амбер</i>)	thr4-B15 (<i>опал</i>)
<i>охр</i>	102	<i>sup1</i>	7	1*	147 (0)	147 (0)
		<i>sup2</i>	41	1*	1527 (0)	2750 (0)
<i>амбер</i>	77	<i>sup1</i>	7	—	(*)	147 (0)
		<i>sup2</i>	50	952 (0)	(*)	1645 (0)
<i>опал</i>	7	<i>sup1</i>	7	—	35 (0)	(*)
		<i>sup2</i>	50	34 (0)	177 (0)	(*)

Примечание: (*) — данную мутацию супрессируют исследуемые тРНК-супрессоры; — не исследовано.

проверенной комбинации скрещиваний не обнаружено изменения кодоновой специфичности тРНК-супрессоров в присутствии рибосомных супрессоров.

Обсуждение. В настоящем сообщении мы подтвердили ранее опубликованные данные о взаимодействии рецессивных и доминантных супрессоров в дигетерозиготе [11]. Подобное взаимодействие, выражающееся в повышении эффективности супрессии УАА-нонсенс-кодона, можно регистрировать не только по ферментативной активности, как это было показано ранее, но и по появлению прототрофности. В то же время наши эксперименты не выявили изменения кодоновой специфичности доминантных тРНК-супрессоров при их взаимодействии в дигетерозиготе с рецессивными рибосомными супрессорами.

Эти результаты ставят под сомнение широко распространенную точку зрения на эффект рибосомной супрессии исключительно как на

результат искажения кодон-антикодового взаимодействия. В таком случае следует предположить, что рибосомная супрессия происходит не только, а может быть и не столько за счет этого механизма, сколько за счет изменения селективности мутантных рибосом по отношению к эндогенным (естественно существующим) супрессорным тРНК. Такие тРНК способны транслировать нонсенс-кодоны, однако в ходе безклеточного синтеза нормальные рибосомы их не используют или используют с низкой эффективностью. У мутантов дрожжей по генам *sup1* и *sup2* субчастица рибосом 60S изменена, по-видимому, таким образом, что эндогенные супрессорные тРНК активно используются в белковом синтезе и транслируют нонсенс-кодоны [44, 45].

Косвенным подтверждением этой точки зрения могут служить эксперименты по изучению влияния полиаминов на точность трансляции. С одной стороны, известно, что полиамины повышают точность трансляции, что показано в поли-U-зависимой бесклеточной белоксинтезирующей системе [14, 15, 29, 31]. Кроме того, в бесклеточных системах при использовании естественных мРНК полиамины увеличивают эффективность трансляции нонсенса за счет экзогенных супрессорных тРНК [48]. Предполагается, что это происходит за счет увеличения специфичности и силы кодон-антикодового взаимодействия (16). С другой стороны, показано, что полиамины индуцируют *in vitro* трансляцию UAG- и UGA-кодонов в отсутствие экзогенных супрессорных тРНК [27, 35, 48]. Это, на первый взгляд, должно свидетельствовать о снижении точности трансляции. Данное противоречие легко разрешимо исходя из предположения, что в клетках в норме существуют и высокоэффективные нонсенс-супрессорные тРНК.

Действительно, в клетках *E. coli* найдена тРНК^{Trp} (антикодон CCA), которая с низкой эффективностью супрессирует UGA [26]. Такие же тРНК найдены в клетках эукариот как растительных, так и животных. У табака обнаружены две тРНК^{Trp} (антикодон GCA), которые читают UAG при трансляции РНК вируса табачной мозаики [17]. В этой же системе кодон UAG читает тРНК^{Trp} (антикодон QCA) из зародышей пшеницы [1]. В клетках печени быка найдена тРНК^{Trp}, супрессирующая кодон UGA. Эта тРНК заряжается серином, но не метионинами, андикодон CmCA, который спаривается исключительно с кодоном UGA [19, 25]. В клетках дрозофилы найдена тРНК^{Trp} при микроинъекции которой в ооциты *Xenopus* наблюдается супрессия кодона UAG [18].

Кроме нонсенс-супрессорных тРНК в нормальных клетках обнаружены тРНК, которые могли бы вызывать миссенс-супрессию. Так, в *E. coli* была найдена тРНК^{Leu}, добавление которой в поли-U-зависимую бесклеточную белоксинтезирующую систему приводит к синтезу полилеуцина [49]. Аналогичные тРНК^{Leu} были найдены также у эукариот (10).

Присутствие нонсенс-супрессорных тРНК в нормальных клетках предполагает подстановку аминокислот в ответ на нонсенс-кодоны. Происходит ли случайная трансляция всех нонсенс-кодонов или существует только некоторый их набор, для которого такая трансляция допустима? Косвенным ответом на этот вопрос являются данные, свидетельствующие о том, что супрессия UGA кодонов нормальными тРНК^{Trp} у *E. coli* зависит от контекста нонсенс-кодона. Наличие аденина рядом с 3'-концом UGA приводит к трансляции этого кодона и синтезу сквозных белков [20]. Таким образом, число терминирующих кодонов, чувствительных к эндогенным супрессорным тРНК, может быть ограниченным. Имеются данные, что супрессия таких кодонов, приводящая к синтезу сквозных белков, используется в регуляции

триптофанового оперона *E. coli* [13, 21]. Предполагается также, что синтез сквозных белков на определенной стадии клеточного цикла может иметь решающее значение в клеточной дифференцировке грибов [38].

Полиамины являются естественными компонентами про- и эукариотических клеток. Влияя на специфичность и силу кодон-антикодового взаимодействия, они, предположительно, определяют общий уровень точности трансляции в клетке [16]. Естественно предположить, что модуляция эффективности супрессии терминирующих кодонов эндогенными супрессорными тРНК также может осуществляться путем изменения концентрации полиаминов в клетке.

Все сказанное выше заставляет по-новому взглянуть на обеспечение точности трансляции как у прокариот, так и у эукариот. Наряду с механизмом коррекции, который исключает неправильно связанные аминокислоты-тРНК, существует механизм, обеспечивающий определенный уровень неоднозначности трансляции без нарушений отношений кодон-антикодон. Уровень такой неоднозначности трансляции определяется состоянием рибосомы, взаимодействующей с эндогенными супрессорными тРНК.

Таким образом, нами показано, что увеличение эффективности супрессии охр-мутаций вследствие взаимодействия доминантных (тРНК) супрессоров с рецессивными рибосомными супрессорами *sup1* и *sup2* в дигетерозиготе можно регистрировать, используя маркеры ауксотрофности.

Согласно этому критерию при взаимодействии доминантных (тРНК) супрессоров охр-, амбер- и опал-типа с рецессивными рибосомными супрессорами *sup1* и *sup2* в дигетерозиготе не обнаружено изменения кодоновой специфичности тРНК-супрессоров.

Summary

In the yeast *Saccharomyces cerevisiae* interactions of tRNA and ribosomal suppressors *sup1* and *sup2* have been studied in diploids .diheterozygous for these suppressors.

It has been shown that interactions of low efficient tRNA ochre suppressors with ribosomal omnipotent suppressors in diploids homozygous for ochre mutation lead to increase in efficiency of suppression of this ochre mutation which can be registered as a prototrophy.

When interactions of tRNA suppressors of different codon specificity with ribosomal suppressors *sup1* and *sup2* were analysed in diploids homozygous for ochre, amber and opal mutations in no one of 7561 combinations tested the changes of codon specificity were discovered.

The role of endogenic tRNA suppressors' and ribosomal interactions in translational ambiguity is discussed.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бауэр Х., Барцневска М., Гросс Х. Я. Природные супрессорные тРНК та- и шенины, узнающие кодон UAG РНК ВТМ. — В кн.: Тезисы докладов 16 конф. Федерации Европейских Биохимических Обществ, 1984, с. 118.
2. Захаров Н. А., Кожин С. А., Кожина Т. Н., Федорова И. В. Сборник методик по генетике дрожжей сахароминетов. Л., 1976, 125 с.
3. Инге-Венцова С. Г. Идентификация некоторых групп сцепления у Петергофских генетических линий дрожжей. — Генетика, 1971, т. 7, № 9, с. 113—124.
4. Инге-Венцова С. Г. Дрожжи. — В кн.: Итоги науки и техники. ВИНТИ, Общие проблемы биологии. М., 1982, т. 1, с. 148—192.
5. Инге-Венцова С. Г., Андрианова В. М. Рецессивные супрессоры у дрожжей. — Генетика, 1970, т. 6, № 11, с. 103—115.
6. Инге-Венцова С. Г., Андрианова В. М. Новый тип супрессоров у дрожжей. — В кн.: Молекулярные механизмы генетических процессов. М., 1970, с. 189—195.
7. Инге-Венцова С. Г., Симаров Б. В. Связь супрессии и межклеточной комплементации в локусе AD_2 у *Saccharomyces cerevisiae*. — В кн.: Исследования по генетике, 1967, вып. 3, с. 127—148.
8. Симаров Б. В., Тихомирова В. Л., Шабунов Б. Е., Новикова Н. И., Царько-

- ал. С. А. Регуляция трансляции нонсенс-кодонов у дрожжей. — В кн.: Тезисы работ XIV Международного генетического конгресса, 1978, т. 1, с. 56.
9. Симаров Б. В., Шабунюк Б. Е., Царькова С. А., Миронова Л. Н., Тихомиров В. Л., Михайлова Н. П., Повикова Н. И. Доминантная нонсенс-супрессия у дрожжей. — В кн.: Тезисы работ III Съезда ВОГИС, 1977, т. 1, с. 419.
10. Солдаткин А. П., Желтовская Н. И., Овчаренко Г. В., Ельская А. В. Неоднозначность трансляции полиуридиловой кислоты транспортными РНК из различных эукариотических объектов. — Укр. биохим. журн., 1983, т. 55, с. 603—607.
11. Тер-Аванесян М. Д., Инге-Вечтомов С. Г. Взаимодействие доминантных и рецессивных супрессоров у дрожжей. — Генетика, 1980, т. 16, № 1, с. 86—94.
12. Тер-Аванесян М. Д., Шубочкина Е. А., Инге-Вечтомов С. Г. Проявление мутаций в генах *sup1* и *sup2* дрожжей *S. cerevisiae*. Влияние повышенного осмотического давления. — Генетика, 1982, т. 18, № 2, с. 215.
13. Энгельберг-Кулка Х., Копеловец Дж., Шулакер-Шварц Р. Прочитывание UGA кодона: новый регуляторный механизм, участвующий в аттенуации триптофанового оперона в *E. coli*. — В кн.: Тезисы докл. 16 конф. Федер. Европ. Биохим. Общ., 1984, с. 276.
14. Abraham A. K. The fidelity of translation. — Progr. in Nucl. Acid Res. and Mol. Biol., 1983, vol. 28, p. 81—100.
15. Abraham A. K., Obsnes S., Pihl A. Fidelity of protein synthesis in vitro is increased in the presence of spermidine. — FEBS Lett., 1979, vol. 101, p. 93—96.
16. Abraham A. K., Pihl A. Role of polyamines in macromolecular synthesis. — Trends Biol. Sci., 1981, vol. 6, p. 106—107.
17. Beier H., Barciszewska M., Krupp G., Mitnacht R., Gross H. J. UAG readthrough during TMV RNA translation: isolation and sequence of two tRNAs^{Tyr} with suppressor activity from tobacco plants. — The EMBO J., 1984, vol. 3, p. 351—356.
18. Bienz M., Kubli E. Wild-type tRNA^{Tyr} reads the TMV RNA stop codon, but Q base-modified tRNA^Q does not. — Nature, vol. 294, p. 188—190.
19. Diamond A., Dudock B., Hatfield D. Structure and properties of a bovine liver UGA suppressor serine tRNA with tryptophan anticodon. — Cell, 1981, vol. 25, p. 497—506.
20. Engelberg-Kulka H. UGA suppression by normal tRNA^{Tyr} in *E. coli*: codon context effects. — Nucl. Acid. Res., 1981, vol. 9, p. 983—991.
21. Engelberg-Kulka H., Dekel L., Israeli-Reches M. Regulation of the *E. coli* tryptophan operon by readthrough of UGA termination codons. — Bioch. Bioph. Res. Com., 1981, vol. 94, p. 1008—1015.
22. Glass R. E., Nene V., Hunter M. G. Informational suppression as a tool for the investigation of gene structure and function. — Biochem. J., 1982, vol. 203, p. 1—13.
23. Gorini L. Informational suppression. — Ann. Rev. Genet., 1970, vol. 4, p. 107—134.
24. Gorini L. Streptomycin and misreading of the genetic code. — In: Ribosomes /Ed. M. Nomura c. a. New York, 1974, p. 791—803.
25. Hatfield D., Diamond A., Dudock B. Opal suppressor serine tRNAs from bovine liver from phosphoseryl-tRNA. — Proc. Nat. Acad. Sci., 1982, vol. 79, p. 6215—6219.
26. Hirsh D., Gold L. Translation of the UGA triplet in vitro by tryptophan transfer RNA's. — J. Mol. Biol., 1971, vol. 58, p. 459—468.
27. Hryniewicz M. M., Haar R. A. V. Polyamines enhance readthrough of the UGA termination codon in a mammalian messenger RNA. — Molec. Gen. Genet., 1983, vol. 190, p. 336—343.
28. Hummel H., Piepersberg W., Bock A. 30S subunit mutation relieving restriction of ribosomal misreading caused by L6 mutations. — Molec. Gen. Genet., 1980, vol. 179, p. 147—153.
29. Igarashi K., Hashimoto S., Miyake A., Kashiwagi K., Hirose S. Increase of fidelity of polypeptide synthesis by spermidine in eukaryotic cell-free systems. — Eur. J. Biochem., 1982, vol. 128, p. 597—604.
30. Ishiguro J., Ono B.-I., Masurekar M., McLaughlin C. S., Sherman F. Altered ribosomal protein S11 from SUP46 suppressor of yeast. — J. Mol. Biol., 1981, vol. 147, p. 391—397.
31. Jelenc P. C., Kurland C. G. Nucleoside triphosphate regeneration decrease the frequency of translation errors. — Proc. Nat. Acad. Sci., 1979, vol. 78, p. 3174—3178.
32. Kohli J., Altruda F., Kwong T. e. a. Nonsense suppressor tRNA in *Schizosaccharomyces pombe*. — In: Transfer RNA: Biological aspects, New York: 1980, p. 407—419.
33. Kuhberger R., Piepersberg W., Peitzel A. e. a. Alteration of ribosomal protein L6 in gentamicin-resistant strains of *E. coli*. Effects on fidelity of protein synthesis. — Biochemistry, 1979, vol. 18, N 1, p. 187—193.
34. Masurekar M., Palmer E., Ono B.-I., Wilhelm J. M., Sherman F. Misreading of ribosomal suppressor SUP46 due to an altered 40S subunit in yeast. — J. Mol. Biol., 1981, vol. 147, p. 381—390.
35. March M.-D., Benticourt C. Polyamines stimulate suppression of amber termi-

nation codons in vitro by normal tRNAs. — Eur. J. Biochem., 1980, vol. 105, p. 445—451.

36. *One B.-J., Stewart J. W., Sherman F.* Serine insertion caused by a ribosomal suppressor SUP46 in yeast. — J. Mol. Biol., 1981, vol. 147, p. 373—379.

37. *Picard-Bennoun M.* Mutation affecting translational fidelity in the eucaryote *Podospira anserina*: Characterization of two ribosomal restrictive mutations. — Mol. Gen. Genet., 1981, vol. 173, p. 175—180.

38. *Picard-Bennoun M.* Does translational ambiguity increase during cell differentiation? — FEBS Lett., 1982, vol. 149, p. 167—170.

39. *Piepersberg W., Geyl D., Hummel H., Bock A.* Physiology and biochemistry of bacterial ribosomal mutants. — In: Genetics and evolution of RNA polymerase tRNA and ribosomes / Ed. S. Osawa et al. Tokyo, 1980, p. 359—377.

40. *Piper P. W.* Characterization of nonsense suppressor tRNA from *Saccharomyces cerevisiae*: identification of the mutational alterations that give rise to the suppressor function. — In: Transfer RNA: Biological aspects. New York, 1980, p. 379—394.

41. *Sherman F.* Suppression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. — In: The molecular biology of the yeast *Saccharomyces*. II. Metabolism and gene expression / Eds. J. N. Strathern et al., New York, 1982, p. 453—486.

42. *Steege D. A., Soll D. G.* Suppression. — In: Biological regulation and development / Ed. R. F. Goldberg. New York; London, 1979, vol. 1, p. 433—485.

43. *Surguchov A. P., Berestetskaya Yu. V., Fominykh E. S. et al.* Recessive suppression in yeast *Saccharomyces cerevisiae* is mediated by a ribosomal mutation. — FEBS Letters, 1980, vol. 111, N 1, p. 175—178.

44. *Surguchov A. P., Fominykh E. S., Smirnov V. N. et al.* Further characterization of recessive suppression in yeast. Isolation of the low temperature sensitive mutant of *S. cerevisiae* defective in the assembly of 60s ribosomal subunit. — Biochem. Biophys. Acta, 1981, vol. 654, p. 149—157.

45. *Surguchov A. P., Smirnov V. N., Ter-Avanesyan M. D., Inge-Vechtomov S. G.* Ribosomal suppression in eucaryotes. — Physicochem. biol. Rev., 1984, vol. 4, p. 67—126.

46. *Ter-Avanesyan M. D., Mironova L. N., Inge-Vechtomov S. G., Zlatkin I. V. et al.* Drug-dependent mutants in yeast *S. cerevisiae*. — Current Genet., 1983, vol. 7, p. 357—362.

47. *Ter-Avanesyan M. D., Zimmermann J., Inge-Vechtomov S. G. et al.* Ribosomal recessive suppressors cause a respiratory deficiency in yeast *S. cerevisiae*. — Mol. Gen. Genet., 1982, vol. 185, p. 319—353.

48. *Tuite M. F., McLaughlin C. S.* Polyamines enhance the efficiency of tRNA-mediated readthrough of amber and UGA termination codons in a yeast cell-free system. — Current Genet., 1983, vol. 7, p. 421—426.

49. *Yamaizumi Z., Kuchino Y., Harada F., Nichimura S., McCloskey J. A.* Primary structure of *E. coli* tRNA^{1^{cu}}_R. — J. Biol. Chem., 1980, vol. 255, p. 2220—2225.

ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА И МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА НА РИБОСОМНУЮ СУПРЕССИЮ В ЦИТОПЛАЗМЕ У ДРОЖЖЕЙ-САХАРОМИЦЕТОВ

С. Г. ИНГЕ-ВЕЧТОМОВ

Рецессивные супрессоры у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* sup1, sup2 [2, 5] контролируют белки большей субчастицы цитоплазматической рибосомы [9]. Эти супрессоры эффективны во взаимодействии со всеми тремя nonsense-кодонами [19]. Исследованию рецессивной рибосомной супрессии способствовала селективная система отбора мутаций по двум унаследованным генам: одновременная реверсия к прототрофности по аргинину и гистидину у штаммов, несущих мутации *adel-14* и *his7-1*, достигается только благодаря супрессорным мутациям в генах *sup1* и *sup2* [4].

С использованием такой селективной системы удалось охарактеризовать большое число мутаций по их разнообразным плеiotропным проявлениям [8] и идентифицировать первичное изменение аппарата трансляции как нарушение структуры белков 60S-субчастицы цитоплазматических рибосом [9]. Таким образом, уровень неоднозначности трансляции у дрожжей оказался связанным с состоянием как малой [14], так и большой [19] субчастиц рибосом.